

van drie nucleaire eiwitcoderende loci. Door de genalogieën van deze loci te vergelijken kunnen soorten worden geïdentificeerd. De resultaten van dit onderzoek zullen bijdragen aan een betrouwbare methode om *Botrytis* soorten eenduidig te identificeren.

Cytogenetica van *Fusarium*-schimmels

Cees Waalwijk¹, Rahim Mehrabi¹, M. Taga²,
Theo van der Lee¹ en Gert Kema¹

¹ Plant Research International B.V., Droevendaalsesteeg 1,
P.O.Box 16, 6700 AA Wageningen, Nederland.

²Department of Biology, Faculty of Science Okayama
University, Okayama, Japan. e-mail: cees.waalwijk@wur.nl

De chromosomen van schimmels zijn vele malen kleiner dan die van planten en dieren, waardoor klassieke cytologische methoden niet op schimmels kunnen worden toegepast. Om de chromosomen van verschillende *Fusarium* soorten zichtbaar te maken werd gebruik gemaakt van een methode waarbij kiembuizen worden opengebarsten, de zogenoemde GTBM (Germ Tube Burst Method). Met deze methode is het mogelijk op precies het aantal chromosomen van schimmels vast te stellen. De condities voor het produceren van voldoende sporen van goede kwaliteit werden voor verschillende *Fusarium* soorten uitgezocht, alsook de incubatie omstandigheden voor het verkrijgen van kiembuizen van de goede lengte. In meerdere isolaten van *Fusarium graminearum* (perfecte stadium *Gibberella zeae*) werden met behulp van de GTBM vier chromosomen waargenomen. Dit aantal is in prima overeenstemming met de gecombineerde genetische en fysische kaart van het isolaat PH-1 (=NRRL 31084), waarvan in 2003 de sequentie beschikbaar is gekomen. Dit isolaat behoort tot de zogenaamde lineage 7, die de belangrijkste populatie van *F. graminearum* vormt op tarwe en gerst in zowel West-Europa als Noord-Amerika. In tegenstelling tot Noord-Amerika wordt *Fusarium* aarziekte in West-Europa vaak veroorzaakt door een complex van *Fusarium* schimmels, waarvan in de negentiger jaren *F. culmorum* de meest prominente soort was. Ook in deze soort werden vier chromosomen waargenomen evenals in de andere soorten van het *Fusarium* aarziekte complex.

De genetische informatie van *F. graminearum* omvat 36 Mb, terwijl de GTBM aangeeft dat deze chromosomen vrijwel gelijk in grootte zijn. Derhalve zijn deze chromosomen ieder te groot om met de Pulsed-Field Gel Electrophoresis, of PFGE zichtbaar gemaakt te worden. Bij *F. proliferatum*, die afkomstig is uit een andere sectie van het geslacht, werden twaalf chromosomen waargenomen mbv de GTBM. Uit de literatuur is bekend dat de sterk verwante soort *F. verticil-*

lioides twaalf koppelingsgroepen bevat, terwijl bovendien twaalf chromosomen konden worden vastgesteld met behulp van de PFGE. Deze vergelijking onderstreept de waardevolle aanvulling die de GTBM biedt op genetisch onderzoek bij (plantenpathogene) schimmels.

Fusarium in granen: epidemiologie en resistentie

Gert H.J. Kema, Ruth van der Heide,
Ineke de Vries, Theo van der Lee, Cor Schoen,
Pieter Kastelein, Jürgen Köhl, Henk Jalink,
Rob van der Schoor en Cees Waalwijk

Plant Research International B.V., Droevendaalsesteeg 1,
P.O.Box 16, 6700 AA Wageningen. e-mail: gert.kema@wur.nl

Fusarium aarziekte in granen is een wereldwijd probleem. De directe opbrengstreducties zijn enorm en de indirecte verliezen door kwaliteitsproblemen en mycotoxinen zijn van een nog grotere orde. Resistentie is vanzelfsprekend een uitstekende manier om *Fusarium* problemen voor te zijn. *Fusarium* in granen wordt echter door een complex van soorten veroorzaakt. Over de resistentie tegen deze individuele soorten is weinig bekend, laat staan over het resistentiemechanisme. Het is daarom zaak eerst te achterhalen welke soorten in lokale populaties voorkomen en de kwantitatieve variatie daarvan te bepalen. Temeer omdat niet bekend is of resistentie tegen één *Fusarium* soort ook werkt tegen een andere *Fusarium* soort. Wij hebben daarom eerst een detectiemethode ontwikkeld waarmee *Fusarium* soorten kwantitatief in gewasmonsters bepaald kunnen worden. Deze methode is geschikt om diverse *Fusarium* soorten in de tijd binnen gewassen te volgen zodat een beeld wordt verkregen over de dynamiek van deze soorten binnen een seizoen. Uit het onderzoek komt naar voren dat vroeg in het seizoen *Microdochium nivale*, de sneeuwschimmel, vooral op de bladeren onder in het gewas voorkomt terwijl *Fusarium* soorten later in het seizoen het blad en de aren koloniseren. De bron voor dit inoculum is niet bekend en de ontwikkelde detectiemethode zal worden gebruikt om de epidemiologie van diverse *Fusarium* soorten tegelijkertijd door te lichten.

Resistentie tegen *Fusarium* wordt onderscheiden in diverse typen waarvan resistentie tegen penetratie en kolonisatie het belangrijkste lijken te zijn. Het onderscheid tussen de diverse typen is echter niet goed omschreven. Hierdoor is weinig tot niets bekend over de genetische basis van deze resistentietypen. Het is daarom moeilijk om resistentietypen te combineren in veredelingsprogramma's. Wij hebben daarom *Fusarium* Screen ontwikkeld. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een met GFP getransformeerd *F. culmo-*

rum isolaat. Met FusariumScreen kan het kolonisatieproces in levende planten vanaf het allereerste begin kwantitatief gevolgd worden. Wij proberen met behulp van FusariumScreen de beschreven resistentiemechanismen in tarwe te identificeren en karakteriseren om de gerichte toepassing daarvan in veredelingsprogramma's te ondersteunen. Het principe van FusariumScreen kan op meerdere pathosystemen worden toegepast.

De moleculaire evolutie van Cf-resistentiegenen in tomaat tegen *Cladosporium fulvum*

Marco Kruijt, Bas F. Brandwagt en Pierre J.G.M. de Wit

Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen Universiteit,
Binnenhaven 5, 6709 PD Wageningen
e-mail: marco.kruijt@wur.nl

Een reeks resistentiegenen uit wilde tomatensoorten tegen de bladschimmel *Cladosporium fulvum* (de zgn. Cf genen) zijn gedurende vele decennia door veredelaars met succes ingekruist in commerciële tomatencultivars (*Lycopersicon esculentum*). Het bekende resistentiegen Cf-4 is uit *L. hirsutum* afkomstig en het Cf-9 gen uit *L. pimpinellifolium*. De DNA-sequentie van zowel het Cf-4 als het Cf-9 gen is in de afgelopen jaren bepaald. Beide Cf-genen zijn nauw verwant. Cf-genen bevinden zich vaak in clusters, met tot vijf Cf-homologen per cluster. Van het merendeel van de Cf-homologen is geen functie in resistentie tegen *C. fulvum* bekend. De clustering van Cf-genen is er de oorzaak van dat er tijdens de geslachtelijke voortplanting van tomaat nieuwe resistentiegen-combinaties zijn geëvolueerd.

Tijdens onze zoektocht naar variatie in het functionele Cf-9 gen (Cf-9 wordt ook wel homoloog 9C genoemd) hebben we binnen *L. pimpinellifolium* naast het reeds bekende Cf-9 gen een nieuw gen gevonden, dat dezelfde functie heeft als Cf-9. Dit 9DC gen is opgebouwd uit een gedeelte van het niet functionele 9D gen en een gedeelte van het Cf-9 gen. Dit is een voorbeeld waarbij door recombinatie van bestaande Cf-homologen een nieuw functioneel Cf-gen is ontstaan. Het cluster van vijf Cf-homologen waarin Cf-9 zich bevindt, was reeds geïsoleerd door collega onderzoekers uit Norwich. Het cluster waarin 9DC zich bevindt is door ons geïsoleerd en in detail gekarakteriseerd. Een vergelijking van beide clusters laat zien dat Cf-9 een van de ouders van het 9DC gen moet zijn geweest. Het was nog niet bekend of in andere wilde tomatensoorten dan *L. hirsutum* en *L. pimpinellifolium* Cf-genen met dezelfde functie als Cf-4 en Cf-9 voorkomen. In alle acht bekende wilde tomatensoorten hebben we hiernaar gezocht. Vergelijking van de se-

quenties van beide Cf-genen in deze wilde tomatensoorten laat zien dat de gevonden genen nauw verwant zijn. Dit suggereert dat voorouders van Cf-4 en Cf-9 al aanwezig waren in de 'oertomaat', vòòrdat de afzonderlijke soorten zijn ontstaan. Het suggereert tevens dat *C. fulvum* al een pathogeen was van deze 'oertomaat' en de drijvende kracht achter de evolutie van de Cf-genen moet zijn geweest.

Middagsessie Kleine Veerzaal

Voorzitter Kees Westerdijk

Een roofmijt uit de boomkwekerij met perspectief voor de biologische plaagbestrijding

Anton van der Linden

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Wageningen UR,
Boskoop, tel. 0172-236728.
e-mail: anton.vanderlinden@wur.nl

In het boomkwekerij onderzoek van PPO loopt een tweetal projecten, spint (*Tetranychus urticae*) in roos en buxustopmijt (*Phytoptus canestrinii*), waarbij aandacht is gegeven aan het optreden van natuurlijke vijanden.

Bij buxus is enkele jaren geleden een veelgebruikt middel tegen buxustopmijt uit de markt genomen. Om op korte termijn een vervangend middel te vinden, zijn verscheidene middelen getest. Voor de langere termijn werd tegelijk nagegaan of er mogelijk geschikte natuurlijke vijanden in buxus worden gevonden. Van de geteste middelen is inmiddels azadirachtine toegelaten. Dit is een Gewasbeschermingsmiddel van Natuurlijke Oorsprong (GNO), dat wordt gewonnen uit de zaden van de neemboom. Er werden in proeven in buxus en in de praktijk geregeld van nature optredende roofmijten bemonsterd. In de meeste gevallen ging het om *Amblyseius andersoni*, terwijl zo nu en dan ook *Neoseiulus californicus* werd gevonden. Dat was een reden om *Amblyseius andersoni* te verzamelen en een kweekmethode te ontwikkelen. Voor de bestrijding van buxustopmijt is de combinatie roofmijten en azadirachtine ideaal, omdat dit middel niet schadelijk is voor roofmijten. In roos werd nagegaan welke natuurlijke vijanden een rol spelen bij de bestrijding van spint. Van nature treedt een groot aantal natuurlijke vijanden op, te weten gaasvlieglarven (*Chrysoperla* sp. en *Conwentzia* sp.), roofwantsen of eigenlijk bloemenwantsen (*Orius* spp.), galmuglarven (*Feltiella acarisuga*) en het spint-etende kevertje *Stethorus* sp. Deze insecten hebben een belangrijke taak als natuurlijke vijand, vooral als er veel spint aanwezig is. Bij de teelt van planten is een grote spintdichtheid echter iets wat men wil voorkomen. Roofmijten zijn beter in staat om spint al